

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2003-254904

(43)Date of publication of application : 10.09.2003

(51)Int.Cl.

G01N 21/27

(21)Application number : 2002-059007

(71)Applicant : MITSUBISHI CHEMICALS CORP

(22)Date of filing : 05.03.2002

(72)Inventor :
TSUBOYA KANAKO
KUBO HIDEYUKI
SEKI YOSHINORI

(54) SURFACE PLASMON RESONANCE SENSOR CHIP AND METHOD FOR ANALYZING SAMPLE USING THE SAME

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide a surface plasmon resonance sensor chip having high environment resistance and impact resistance, capable of highly accurate analysis.

SOLUTION: In this surface plasmon resonance sensor chip, an optical prism or a diffraction grating, and a metal layer are provided in the vicinity of a sensor surface in contact with a sample, and a resonance region wherein a resonance phenomenon of a surface plasmon wave induced on the surface of the metal layer by irradiation of light and an evanescent wave produced by the action of the optical prism or the diffraction grating can be produced is formed on the sensor surface. The chip is made by forming the diffraction grating on a substrate of an inorganic compound, and the metal layer is laminated on the substrate to make this surface plasmon resonance sensor chip.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

THIS PAGE BLANK (USPTO)

**Japanese Unexamined Patent Publication
No. 254904/2003 (*Tokukai* 2003-254904)**

A. Relevance of the Above-identified Document

The following is a partial English translation of exemplary portions of non-English language information that may be relevant to the issue of patentability of the claims of the present application.

B. Translation of the Relevant Passages of the Document

See also the attached English Abstract.

[CLAIMS]

[CLAIM 1]

A surface plasmon resonance sensor chip including (i) a metal layer and (ii) a diffraction grating both of which are provided near a sensor side of the surface plasmon resonance sensor chip making contact with a sample, the sensor side having provided thereon a resonance area where resonance phenomena can occur resulting from (a) surface plasmon waves excited on a surface of the metal layer by irradiation of light and (b) evanescent waves generated by action of the diffraction grating, ...

... the metal layer is stacked on the substrate.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号
特開2003-254904
(P2003-254904A)

(43) 公開日 平成15年9月10日 (2003.9.10)

(51) Int.Cl.⁷

識別記号

F I

テマコード* (参考)

G 0 1 N 21/27

G 0 1 N 21/27

C 2 G 0 5 9

審査請求 未請求 請求項の数 6 O L (全 7 頁)

(21) 出願番号 特願2002-59007 (P2002-59007)

(22) 出願日 平成14年3月5日 (2002.3.5)

(71) 出願人 000005968

三菱化学株式会社

東京都千代田区丸の内二丁目5番2号

(72) 発明者 坪谷 奏子

神奈川県横浜市青葉区鴨志田町1000番地

三菱化学 株式会社内

(72) 発明者 久保 秀之

神奈川県横浜市青葉区鴨志田町1000番地

三菱化学 株式会社内

(74) 代理人 100103997

弁理士 長谷川 暁司

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 表面プラズモン共鳴センサチップ及びそれを用いた試料の分析方法

(57) 【要約】

【課題】 精度の高い分析ができ、かつ耐環境性や耐衝撃性の高い表面プラズモン共鳴センサチップを提供する。

【解決手段】 試料と接するセンサ面の近傍に金属層と回折格子とが設けられて、光の照射により上記金属層の表面に誘起される表面プラズモン波と上記回折格子の作用により生じるエバネッセント波との共鳴現象が生じる共鳴領域が上記センサ面に形成された表面プラズモン共鳴センサチップであって、該チップが、無機化合物からなる基板に該回折格子が形成されてなり、該基板上に該金属層が積層されてなる表面プラズモン共鳴センサチップ。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 試料と接するセンサ面の近傍に金属層と回折格子とが設けられて、光の照射により上記金属層の表面に誘起される表面プラズモン波と上記回折格子の作用により生じるエバネッセント波との共鳴現象が生じる共鳴領域が上記センサ面に形成された表面プラズモン共鳴センサチップであって、

該チップが、無機化合物からなる基板に該回折格子が形成されてなり、該基板上に該金属層が積層されてなることを特徴とする、表面プラズモン共鳴センサチップ。

【請求項 2】 該無機化合物がガラスである、請求項 1 に記載の表面プラズモン共鳴センサチップ。

【請求項 3】 該回折格子が基板のドライエッチングにより形成されてなる請求項 1 又は 2 に記載の表面プラズモン共鳴センサチップ。

【請求項 4】 請求項 1 乃至 3 のいずれかに記載の表面プラズモン共鳴センサチップを用いて試料の定量的及び／又は定性的な分析を行うための分析方法であって、上記センサ面上に上記試料を接触させるステップと、上記共鳴領域を照らすように照射光を照射するステップと、上記表面プラズモン共鳴センサチップからの反射光を検出するステップと、検出した反射光の強度に基づき試料の定量的及び／又は定性的な分析を行うステップとを備えたことを特徴とする、分析方法。

【請求項 5】 請求項 4 記載の分析方法であって、上記チップは複数の共鳴領域が形成されてなり、上記センサ面上に上記試料を接触させるステップと、上記複数の共鳴領域の全体を照らすように照射光を照射するステップと、上記表面プラズモン共鳴センサチップからの反射光を検出するステップと、検出した反射光から各共鳴領域からの反射光を抽出するステップと、抽出した各共鳴領域からの反射光の強度に基づき試料の定量的及び／又は定性的な分析を行うステップとを備えたことを特徴とする、分析方法。

【請求項 6】 請求項 4 又は 5 に記載の分析方法であって、上記共鳴領域を覆うように上記試料中の検出種と特異的に結合する結合物質を上記センサ面に固定化するステップと、上記センサ面上に上記試料を接触させるステップと、上記共鳴領域を照らすように照射光を照射するステップと、上記表面プラズモン共鳴センサチップからの反射光を検出するステップと、検出した反射光から各共鳴領域からの反射光を抽出するステップと、

抽出した各共鳴領域からの反射光の強度に基づき試料の定量的及び／又は定性的な分析を行うステップとを備えたことを特徴とする、分析方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、表面プラズモン共鳴（SPR）を利用した試料分析のためのセンサチップ（表面プラズモン共鳴センサチップ）の構造に関し、特に、エバネッセント波を誘起する光学構造として回折格子を備えたセンサチップの構造及びそれを用いた試料の分析方法に関する。

【0002】

【従来の技術】従来、生化学や医療検査等の分野においては、化学種、生化学種又は生物種等の検出種を含む試料流体の定量的及び／又は定性的な分析方法として、表面プラズモン共鳴（SPR）を利用した分析方法が知られている。表面プラズモン共鳴は、金属層に光が入射した場合に金属表面に誘起される表面プラズモン波が入射光により生成されたエバネッセント波に共鳴して励起される現象である。表面プラズモン共鳴は入射光の波長及び角度に依存しており、表面プラズモン共鳴が励起されたときには、特定の入射角又は特定の波長を有する光成分の光エネルギーが表面プラズモン波へ移行することにより、対応する入射角又は波長を有する反射光が減少するという特徴がある。

【0003】表面プラズモン共鳴を起こすためには、特定の表面プラズモン波を有する金属と、表面プラズモン波と共鳴するエバネッセント波を誘起する光学構造とが必要となる。エバネッセント波を誘起する光学構造としては現在二つの構造が知られている。一つはブリズムの全反射を利用した光学構造であり、もう一つは回折格子を利用した光学構造である。なお、上記の金属にこれらの光学構造を組み合わせた素子は一般に表面プラズモン共鳴センサチップ（以下、単にセンサチップという）と呼ばれている。

【0004】通常、センサチップは基体に金属層を積層した構造を有し、金属層上には、特定の検出種と相互作用して特異的に結合する結合物質（リガンド、分子認識素子）が塗布されて固定化される。このリガンドが固定化された金属層の表面に試料を接触させることにより、リガンドに試料中の検出種が捕捉される。表面プラズモン共鳴は金属層の表面における媒質の屈折率にも依存しており、媒質の屈折率が変化すれば波長一定の場合には共鳴角が変化し、また、入射角度一定の場合には共鳴波長が変化する。したがって、反射光の強度に基づき共鳴角或いは共鳴波長を調べることで金属層の表面における媒質の屈折率を分析することができる。一般に、入射波長を一定として入射角度を変化させ、共鳴角を調べる方式を角度スキャン方式と称する。また、入射角度を一定として入射波長を変化させ、共鳴波長を調べる方式を波

長スキャン方式と称する。

【0005】この場合、金属層の表面の媒質の屈折率の変化は、リガンドに捕捉される検出種の物質量、すなわち試料中の検出種の濃度の変化に対応していることから、表面プラズモン共鳴が起きる共鳴角或いは共鳴波長を調べることで、試料中の検出種の濃度等を分析することができる。このようなセンサチップのうち、プリズム型のセンサチップは、一般にセンサチップ本体(透明基体上に金属層が積層されたもの)とプリズムとから構成されている。センサチップは基本的には使い捨てであるが、プリズムは高価であるため、センサチップ本体だけでなくプリズムまでも使い捨てにすると測定コストが非常に高くなってしまふ。このため、この型のセンサチップでは、一般にセンサチップ本体とプリズムが別で、使用時にプリズムをセンサチップ本体に密着させてプリズムに光を入射し、反射光を検出し測定するようになっている。

【0006】このようにセンサチップ本体とプリズムとが別の場合、使用時には、センサチップ本体とプリズムとの密着性を上げるためにマッシングオイルを間に挟んで密着させる場合が多い。しかし毎回同じ状態に密着させるのは非常に困難で、測定の度に密着度合いのばらつきが大きく、したがって測定値のばらつきが大きいという課題がある。この対策例として、特開2000-121551号公報に開示されているように補正用の標準液を測定することでセンサチップ間の測定値のばらつきを補正する方法が提案されている。しかしながら、この場合、標準液を供給するための新たな送液系が必要になり、また、センサチップ本体も標準液の供給をうけることができるように特別な構造を必要とする。

【0007】一方、回折格子型のセンサチップは、表面に凹凸形状(グレーティング)を有する透明基体上に金属層を積層された構造になっている。凹凸形状上に金属層が積層されることで金属層の表面にも凹凸形状が現れ、この金属層の表面の凹凸形状が回折格子として機能する。この型のセンサチップは、プリズム型のように高価なプリズムを使用しないため安価であり、使い捨てが可能である。また、プリズム型のようにプリズムとセンサチップ本体を密着させる作業が不要のため、密着度合いのばらつきといった不具合もなく測定値の再現性が良いという利点もある。

【0008】また、プリズム型のセンサチップではプリズムを入射光及び反射光の経路とするという構造上、ビームの径やビームを照射できる領域に制約があるが、回折格子型のセンサチップにはこのような制約はなく、大径のビームを使用することができ、また任意の位置にビームを照射することができる。したがって、回折格子型によればプリズム型に比較して一度に大面積を検査することができ、またセンサチップ上の任意の位置について検査することができるという利点がある。

【0009】今日では、分析処理の高速化のため、一つのセンサチップ上において多数の測定点(スポット)について測定を行う多項目測定が行われ、さらに、全スポットについて同時に測定を行う多点同時測定が要望されているが、このような要望に鑑みても、一度に大面積の検査が可能であり、また、金属表面上の任意の位置について検査が可能な回折格子型のセンサチップに対する期待は今日ますます高まっている。

【0010】回折格子型のセンサチップの作成方法としては、従来、紫外線硬化性樹脂を用いた2P法によるものが知られている。この方式では、所望の回折格子パターンと凹凸逆(陰画)のパターンを持ったスタンパーを作成し、透明な支持基盤(ガラスあるいはプラスチック)上に紫外線硬化性樹脂を均一に塗布し、その上にスタンパーを圧着し、透明支持基盤側から紫外線を照射する。紫外線硬化性樹脂が硬化した後スタンパーを剥離すると、所望の回折格子パターンを持った、紫外線硬化性樹脂層付き基盤が得られる。

【0011】さらにこの上に、薄い金属膜を蒸着やスパッタリングで形成する。これを検出装置のサイズに合うように加工して、センサチップが得られる。

【0012】

【発明が解決しようとする課題】このような方法を用いることによって、回折格子の形成は短時間に行えることになったが、反面、以下のような問題も有している。すなわち、チップ上には、共鳴領域となるべき回折格子を正確に配置する必要があるが、2P法ではスタンパーと基盤の位置合わせが難しく、これを精密に行うには時間を要してしまうので、2P法は短時間で多数のチップ基板を作成するには不向きである。

【0013】特に、隔々まで均一にスタンパーの回折格子パターンを転写する為には、スタンパーを圧着する際に泡が樹脂層に侵入するのを防ぐため樹脂の脱気を行う必要がある。また、回折格子の表面に傾斜を生じて見かけ上の共鳴角がずれてしまい分析の精度に悪影響を与えるのを防ぐために、紫外線硬化性樹脂の塗布厚みを精密に制御する必要があり、チップ作成に時間がかかる。

【0014】また、ガラスやプラスチックなどからなる透明支持基盤と紫外線硬化性樹脂との間には界面が存在するため、場合によっては、チップの切り抜き等の加工をする際や衝撃を与えると界面で剥離が生じる虞があり、耐衝撃性や耐環境性の高いチップが求められていた。更に、代表的な紫外線硬化性樹脂である、アクリル系紫外線硬化性樹脂やポリエステル系紫外線硬化性樹脂には、一般に金属膜との密着が悪い樹脂が多い。このため、紫外線硬化性樹脂の上に直接金属膜を形成するのではなく、両者の間にクロムなど密着性の良い材料からなる中間層を形成したり、下処理して密着性を上げたりする必要がある。しかしそのためチップの表面性が悪化する虞があり、またコストが高くなってしまふ。

【0015】一方、回折格子型のセンサチップの他の作成方法として、熱可塑性樹脂を用いる方法がある。ポリカーボネートや非晶質ポリオレフィンなどの熱可塑性樹脂を射出成形したり、射出成形と打ち抜きを併用したりしてチップ基板を作製するものである。これによれば、透明支持基盤と紫外線硬化性樹脂との界面で剥離が生じることもなく、大量生産も行いやすい。しかし、樹脂基板は一般に吸水などによって反りが発生しやすい。このため樹脂基板を有するチップは高い平面性が得にくく、面内で最大数 μm から数百 μm の凹凸が生じる場合があった。

【0016】一般に、チップに反りが生じると、表面プラズモン共鳴分析を行う際に、同じ強度、同じ入射角で検出光を当てても、チップ表面で反射された光の反射方向が変化してしまい、検出に誤差が生じ、結果としてチップ表面で起こる反応の検出の正確さを損なってしまう。このことは角度スキャン方式で同時多点検出型の表面プラズモン共鳴分析方法において特に問題となりやすい。各測定領域に於いて出力光強度の最も減衰する入射光角度の検出が不正確となるためである。

【0017】更に打ち抜きによってチップ端面に数十～数百 μm の大きさのバリが生じる虞がある、という問題もあった。また、キャストや射出成形等で回折格子面を形成した薄い熱可塑性樹脂層をガラス等の平面性のよい支持体に貼り付けてチップとするという方法も考えられる。しかし、これも強度に問題があったり、貼り付け時の接着剤厚みムラによってチップの平面性が悪くなってしまうたり、複数個作成時に品質にムラが出来てしまうなどの問題があった。

【0018】そこで、高精度の分析を行うために、従来よりも反りが小さく平坦度に優れたチップを得たいとの要望があった。本発明は、このような課題に鑑み創案されたもので、精度の高い分析ができ、かつ耐環境性や耐衝撃性の高い表面プラズモン共鳴センサチップ、及びそれをを用いた試料の分析方法を提供することを目的とする。

【0019】

【課題を解決するための手段】鋭意検討した結果、発明者らは、無機化合物からなる基板上に回折格子が形成されてなり、該基板上に該金属層が積層されてなるセンサチップによれば上記の課題を解決できることを見出した。本発明の要旨は、試料と接するセンサ面の近傍に金属層と回折格子とが設けられて、光の照射により上記金属層の表面に誘起される表面プラズモン波と上記回折格子の作用により生じるエバネッセント波との共鳴現象が生じる共鳴領域が上記センサ面に形成された表面プラズモン共鳴センサチップであって、該チップが、無機化合物からなる基板に該回折格子が形成されてなり、該基板上に該金属層が積層されてなることを特徴とする、表面プラズモン共鳴センサチップに存する。

【0020】本発明の別の要旨は、上記表面プラズモン共鳴センサチップを用いて試料の定量的及び／又は定性的な分析を行うための分析方法であって、上記センサ面に上記試料を接触させるステップと、上記共鳴領域を照らすように照射光を照射するステップと、上記表面プラズモン共鳴センサチップからの反射光を検出するステップと、検出した反射光の強度に基づき試料の定量的及び／又は定性的な分析を行うステップとを備えたことを特徴とする、分析方法に存する。

【0021】

【発明の実施の形態】本発明によれば、表面プラズモン共鳴センサチップ（以下、SPRチップと称することがある。）の基板に無機化合物を用いる。例えば、無機化合物に、化学的エッチングや物理的エッチングによって、表面に所望の形状をもつ回折格子を形成し、この上に金属層を形成することによってSPRチップを得ることができる。無機化合物は一般に寸法安定性が高く反りが小さいので、このようにして得られたSPRチップは、吸水等により生じる反りを非常に小さく抑えることができ、平面性に優れ基板表面に傾斜が生じることもないので、本SPRチップ及びそれをを用いた試料の分析方法によれば、精度の高い分析が可能である。

【0022】更に、無機化合物を用いた基板は、基板そのものに回折格子が形成されるので、2P法のように支持基盤と紫外線硬化性樹脂層との界面が存在せず、従って衝撃等により剥離することがなく、耐衝撃性及び耐環境性に優れた表面プラズモン共鳴センサチップが得られる。そして無機化合物は一般に、紫外線硬化性樹脂に比べて金属膜との密着性にも優れるので、クロム層を挟んだり密着性を向上させるための下処理をすることなく、金や銀などの金属層を直接積層できる。従ってチップの表面性も良く、本チップからは良好な表面プラズモン共鳴シグナルを得ることができる。また、製造時に工程を増やすことなく低コストで作製できる。また、2P法で必要だった樹脂の脱気等も必要がない。

【0023】以上のように本発明によれば、精度の高い分析ができ、かつ耐環境性や耐衝撃性の高い表面プラズモン共鳴センサチップ及びそれをを用いた試料の分析方法を提供できる。特に、反りの影響を受けやすい、角度スキャン方式で同時多点検出型の表面プラズモン共鳴分析方法に用いるとその効果が高い。本発明によれば、多点同時検出の場合にも、各測定点でのバックグラウンド均一性が良好で、精度良く目標物質を検出することが可能な表面プラズモン共鳴用チップを得ることができる。

【0024】本発明のSPRチップ基板に用いる無機化合物としては、ある程度硬質であって剛性が高く、寸法安定性が良く平面性が良好で、表面に回折格子パターンが形成できるものであれば種類は問わないが、例えば、ガラス、誘電体、半導体、合金を含む金属などを用いる。分析時に照射光が基板側から照射される場合には基

板が透明である必要があるが、そうでない場合には、基板は透明である必要はない。

【0025】ガラスとしては例えば、ソーダガラス、石英ガラス、アルミノシリケート系ガラス、非結晶ガラス類などを用いることができる。金属としてはAl-Mg合金等のAl合金や、Mgを主成分とした例えばMg-Zn合金等のMg合金、チタン、シリコン等を用いることができる。誘電体としては、金属や半導体の酸化物、硫化物、窒化物やCa、Mg、Al、Li等のフッ化物などを単独または混合して用いることができる。例え

ば、 MgF_2 、 $ThOF_2$ 、 SiO_2 、 SiO 、 TiO_2 、 Ta_2O_5 、 ZrO_2 、 CeO_2 、 MoO_3 、 Al_2O_3 、 La_2O_3 、 Cu_2O 、 WO_3 、 Si_3N_4 、 ZnS 、 $ZnSe$ 、 CdS 、 $CdSe$ 、 InS などである。

【0026】中でもガラスが、比較的硬度が高く、熱伝導率が高く、低コストであり、透明であるため好ましい。本発明のセンサチップの基板は、平面度が高く十分な剛性を得るため、厚みは通常、0.3mm以上が好ましい。但しSPRチップとして表面プラズモン共鳴測定装置に取り付け可能な厚さである必要があり、3mm以下が好ましい。また、形状は特に限定されず、SPRチップとして表面プラズモン共鳴測定装置に取り付け可能な形状であればよい。通常、1辺数mm～数cmの正方形又は長方形である。

【0027】次に、本発明に係るセンサチップの製造方法について、基板としてガラスを用いる場合を例として説明する。基板上の回折格子は、基板に化学的エッチングや物理的エッチングを施すことで作製することができる。化学的エッチングは化学反応を起こすことにより、基板を腐食等させてエッチングを行う方法であり、物理的エッチングは機械などを用い、物理的に基板の表面を削り取りエッチングを行う方法である。

【0028】本発明においては、微細なパターンが作成可能であり、簡便かつ安価に実施できる点で、化学的エッチングによる方法が好ましい。このようにしてエッチングを行った部分が凹部となり、全体として回折格子が形成される。化学的エッチングの手順としては、エッチング処理に先立って、まず、基板上にフォトレジスト層を形成したのち、通常、露光及び現像処理（フォトリソグラフィ）によりフォトレジスト層に、形成すべき回折格子パターンに応じた凹凸を形成する。

【0029】露光に際しては、波長の等しい2つの平面波（記録光と参照光）を空間で干渉させ、空間的に形成された光強度分布（干渉縞）をフォトレジスト層に記録することで回折格子を形成してもよい。或いは、光源より導いた1本以上の光ビームを対物レンズによって集光しフォトレジスト層上を走査させつつ露光し、これを一定間隔（ピッチ）ごとに繰り返すことによって、所望の間隔（ピッチ）の回折格子を形成してもよい。

【0030】その後エッチング処理を行うが、エッチ

ング処理には大別して2種類の方法があり、一つはウェットエッチングであり、もう一つはドライエッチングである。ウェットエッチングは、上述の回折格子パターンに応じたフォトレジスト層を有する基板を、酸性フッ化アンモニウムなどの酸性のフッ素イオン含有水溶液中に浸漬し、基板の露出部分を腐食溶解する方法である。この方法によれば、腐食は等方的に進み、通常、凹部の断面は半円形状に形成される。

【0031】ドライエッチングは、上述の回折格子パターンに応じたフォトレジスト層を有する基板を、プラズマ化したフッ化物含有ガスを基板の露出部に作用させ、基板をガス化させて除去する方法である。この方法によればエッチング速度はガス粒子の飛来方向に応じて異なり、通常、深さ方向に特異的にエッチングが進む。従って、通常、凹部の断面は矩形に近い形状に形成される。ドライエッチングによれば、フォトレジストと基板のエッチング速度をコントロールしやすく、例えば両者をほぼ同一にできる。従ってフォトレジスト上の凹凸形状をそのまま基板の凹凸形状にすることができ、コントロール容易で好ましい。このように、フォトレジスト層に形成する凹凸形状を変化させることにより、基板に形成される凹凸形状を変化させることができ、これにより所望の形状の回折格子パターンを形成することができる。このため、例えばフォトレジスト層にフォトリソグラフィにより凹凸を形成したのち、UV/オゾン処理等によって凹凸形状を所望のかたちに変化させてもよい。これによれば、角がとれた丸みのある形状の凹凸が形成できる。

【0032】本発明に係る基板の製造においては、より安定して微細な回折格子パターンを形成することが可能であり、凹凸形状を適切に制御することが可能である点からドライエッチングにより作成するのが好ましい。また、本発明において基板としてガラスを用い、フッ化物を含有するガスをを用いてドライエッチングをする際には、フォトレジストに代えてクロムなど金属層を遮蔽材として用いることで、安定に深い回折格子のエッチングが可能である。ドライエッチングでは酸化物を選択的にエッチングし、金属に対するエッチング速度はきわめて遅いためである。

【0033】ドライエッチング法的一种として反応性イオンエッチング法（RIE）を用いても良い。RIEによるエッチング法の一例を説明する。まず、石英ガラス基板に対し、スピンコート法により膜厚20nmのフォトレジスト層を形成したのち、露光、現像してフォトレジスト層に凹凸パターンを形成した。ついで、日本ビクター製RIE-500を用いて、次の手順で反応性イオンエッチング（RIE）を行った。まず最初に、凹部の残留フォトレジストなどの有機付着物を除去するため、 N_2 、 O によるアッシングを2分間行った。その操作条件は、 N_2 、 O 流量144sccm、RF出力50W、RF

周波数13.56MHzである。次いで、CHF₃、ガスを用いて石英ガラスのエッチングを10分間行った。エッチング条件は、CHF₃流量106sccm、圧力5Pa、RF出力50Wである。RIE終了後、フォトリソistを除去し、深さ175nmの溝(凹部)が形成された石英ガラス基体を得た。溝(凹部)の深さは、例えば以下の手法で測定できる。デジタルインストルメント社製 ナノスコープ3a D3100型(Digital Instruments NanoScope IIIa D3100)にて、観察モード:タッピングA 10 FM、スキャンサイズ:10μm、スキャン速度:0.5Hzの条件下である。針は装置に標準なものを用いることができる。この方法によれば、矩形、V字型、正弦波型や台形型の所望の形状の回折格子パターンを作ることが可能である。

【0034】ドライエッチング条件について説明する。用いるエッチングガスとしては、エッチング可能なガスであればよく、対象物や条件により適宜選択すればよいが、例えばCHF₃などのフッ化物が好ましく用いられる。他の条件についても、グロー放電が立つ範囲内で適宜選択すればよい。なお、パワー(出力)が小さいほどエッチング速度は遅くなるがエッチング表面はなめらかになる傾向がある。以上のようにして、特に寸法安定性が良い、優れた特性のチップが得られる。従って1チップ上に複数、例えば400個(400セル)以上もの微小な回折格子パターンからなる共鳴領域を有するチップであって、個々の共鳴領域から良好なSPRシグナルが得られる優れたチップが作製できる。本発明において形成する回折格子パターンの形状は、SPR共鳴を起こしうる形状であれば特に限定されず、矩形波形状、正弦波形状、三角波形状などさまざまなものが用いられ、このような凹凸を周期的に有していればよい。

【0035】回折格子のピッチ(周期:凹凸の凸から隣接する凸までの距離)は、表面プラズモン共鳴測定装置の照射光波長に応じて決定しうるが、例えば400nm以上、1200nm以下である。好ましくは800nm以上900nm以下である。回折格子の凹部の深さ(頂から谷底まで)は、10nm以上であり、より好ましくは30nm以上である。あまり浅いとSPR共鳴を起こし得ない。ただし、300nm以下が好ましく、より好ましくは200nm以下であり、特に好ましくは120nm以下である。あまり深いとSPR共鳴を起こし得ず、またあまり深いとエッチング等により凹部を形成するために要する時間が長くなってしまふ。

【0036】なお、以上述べたような回折格子の凹部の形状やピッチを1枚のチップ上で異ならせても良い。次に、基板表面に金、銀またはそれらの合金などの金属層をスパッタリングまたは蒸着によって形成する。金属層は、蒸着法、スパッタリング法、イオンプレーティング法などによって成膜される。金属の種類としては、測定

波長の付近で十分高い反射率を有している必要があるため、金、銀、銀合金、アルミニウム等の高反射率金属が望ましい。本発明によれば、無機化合物からなる基板を用いるので金属層との密着性は一般的に樹脂よりも高いが、場合によっては、金属層と基板の間に層間の密着力をより向上させるため、または、反射率や共鳴ピークの強度を高める等の目的で中間層を設けてもよい。

【0037】上記の金属層の厚さは、形成された膜の厚さが均一になること、基板樹脂への光の透過を少なくすること等の目的で、40nm以上が好ましく、より好ましくは70nm以上である。また、それ以上厚さが厚くなっても金属層の屈折率は殆ど変化せず、SPR共鳴曲線への寄与は小さいので、コストの面から考えると300nm以下が好ましく、更に好ましくは200nm以下である。

【0038】必要に応じて、金属層の上に直接、又は付着性、安定性を高めるための中間層を介してチップの表面に検出したい物質と特異的に結合を行う物質(リガンド)を付着させる。リガンドの付着はスプッターなどを用いて、数十〜数百μm径のスポット状に行われる。本発明に係るSPRチップを用いた測定装置によるSPR測定法の一例について説明する。

【0039】回折格子上の所定の位置にリガンドを均一に付着させ、その状態でのSPR共鳴曲線を測定する。入射光の波長を変える方法と、入射光の角度を変える場合があるが、以下は入射光の角度を変える場合について説明する。表面プラズモン共鳴(SPR)が起こり、回折格子からの回折光の強度が減少していき、最大に強度が減少した位置の入射光角度を「共鳴角」と呼ぶ。共鳴角の前後で入射光角度-強度曲線(以下「共鳴曲線」と呼ぶ)を描くと、共鳴角の周辺でピークが生じ、ピークの深さが深く、半値幅が狭いほど良好な検出が行われるとされる。

【0040】まずリガンドのみの状態で共鳴曲線を描き、共鳴角を求める。次にそこに検出したい物質を含む水、バッファー、溶媒などを接触させ、チップ上のリガンドと結合させる。その後共鳴曲線を取ると、リガンドと検出種が結合したときに、共鳴角がずれるという現象がみられ、ずれの有無によって結合が起こったこと、またずれの量によって結合した検出種の量も知ることができる。

【0041】多点同時測定の場合は、入射光のスポット内に多数の検出スポットを配置させて、回折光をCCDカメラで分割して検出することにより、数十〜数百のスポットを同時に検出することが可能である。チップに求められる性能としては、上記各スポットでの共鳴曲線のピークがシャープで強度が大きいこと、つまり共鳴角のずれに対する感度がよいことに加え、多点に分割したときの、各スポットでの感度のばらつきが小さいことが上げられる。

【0042】このようなチップの特性の評価のためには、上記のようなリガンドを付着させない状態で、共鳴曲線のみを取ることによってある程度の指標とすることができる。その場合、チップ表面に接する物質の屈折率を揃えるという意味で、一定の温度に保たれた水をチップ表面に接触させながら行くと、良好に評価することが出来る。

【0043】また、より実際の使用に近い評価方法としては、異なる屈折率をもつ2種類以上の溶媒を、リガンドを付着させない状態のチップ表面に順次接触させ、そ 10
の際検出される共鳴角の変化(シフト量、 Δdeg)を*

*測定するという方法もある。共鳴角のシフト量が十分検出可能な大きさであること、また多点同時検出の場合に、各測定点で大きくばらつかないことが望ましい。

【0044】

【発明の効果】以上のように、本発明により、精度の高い分析ができ、かつ耐環境性や耐衝撃性の高い表面プラズモン共鳴センサチップを提供することができる。また、これを用いた試料の分析方法によれば、精度の高い分析ができ、多点同時測定の場合にもばらつきのない均一なSPR曲線を得ることができる。特に、角度スキャン方式の分析方法に用いると効果が顕著である。

フロントページの続き

(72)発明者 関 義則
神奈川県横浜市青葉区鴨志田町1000番地
三菱化学 株式会社内

Fターム(参考) 2G059 AA01 EE02 GG10 JJ05 JJ12
KK01 KK04

THIS PAGE BLANK (USPTO)